

**Vergleichende Untersuchungen zum
Antikörpergehalt gegen die
Newcastle-Krankheit im Eidotter
und Serum beim Huhn**

Hans-Rainer Seidl

1975

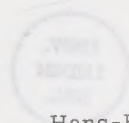
Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546706_0036

Aus dem Tiergesundheitsdienst Bayern
Fachabteilung Geflügel-Gesundheitsdienst
Leitung: Prof. Dr. P. Dorn

Vergleichende Untersuchungen zum Antikörpergehalt
gegen die Newcastle-Krankheit im Eidotter
und Serum beim Huhn.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der
Ludwig-Maximilians-Universität München



von
Hans-Rainer Seidl
aus
Dorfen

München 1975

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Tiermedizin
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. B. Vollmerhaus
Referent: Prof. Dr. P. Dorn
Korreferent: Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr

Tag der Promotion: 21. Februar 1975



Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

A)	Einleitung	1
B)	Literatur	2
C)	Eigene Untersuchungen	11
I.	Material und Methoden	11
1.	Vergleichende Serum-Dotter-Untersuchungen	11
a)	Versuchstiere	11
b)	Blutentnahme	11
c)	Gewinnung der Eidotter	12
d)	Haemagglutinations-Hemmungs-Test	13
	Gewinnung von Erythrozyten und Herstellung der Erythrozytenlösung	13
	Einstellung der Antigen-Gebrauchslösung auf vier haemagglutinierende Einheiten	13
	Ausführung des Haemagglutinations-Hemmungs- Tests	13
2.	Vergleichende Eidotter- und Küken Serum-Titer- Bestimmung	14
3.	Einfluß des Eiweiß auf den Haemagglutinations- Hemmungs-Test	15

II

II.	Ergebnisse	16
1.	Vergleichende Serum-Dotter Untersuchungen	16
2.	Vergleichende Eidotter- und Kükenserum- Titer-Bestimmung	22
3.	Einfluß des Eiweiß auf den Haemagglutinations- Hemmungs-Test	24
D)	Diskussion	26
E)	Zusammenfassung	30
F)	Literaturverzeichnis	32

A. Einleitung:

Newcastle-Seuchenzüge zeigen immer von Neuem die Notwendigkeit wirksamer Herdenimmunisierungen und deren Erfolgskontrolle. Je geringer der Aufwand solcher Kontrollmaßnahmen, desto sicherer läßt sich der Immunstatus in den Geflügelherden überwachen.

Der relative Aufwand der Entnahme und Aufarbeitung von Blutproben in ausreichender Stichprobenzahl gab Veranlassung, die Verwendbarkeit des Eidotters an Stelle von Serum im Haemagglutinations-Hemmungs-Test zu kontrollieren. Mit war deshalb die Aufgabe gestellt, entsprechende Vergleichsuntersuchungen durchzuführen.

B. Literatur:

Das Newcastle-Disease (ND) Virus ruft bei empfänglichen Individuen die Bildung von hämagglutinationshemmenden, virusneutralisierenden, komplementbindenden und praezipitierenden Antikörpern hervor (13).

Haemagglutinationshemmende Antikörper werden bei der Newcastle-Krankheit frühestens 5 Tage p. inf. ausgebildet, während virusneutralisierende Antikörper 6 Tage p. inf. im Serum gefunden werden (25). Nach Gratzl und Köhler (11) treten neutralisierende Antikörper nicht vor dem 10. Tag p. inf. auf. Das Maximum der haemagglutinationshemmenden Antikörper wird zwischen dem 13. und 17. Tag p. vacc. erreicht (1, 30). Kaleta und Siegmann (18) haben belegt, daß etwa eine Woche p. inf. bzw. p. vacc. haemagglutinationshemmende und virusneutralisierende Antikörper nachweisbar sind.

Das ND-Virus agglutiniert die Erythrozyten von Hühnern, Gänsen, Schafen, Ziegen, Rindern, Hunden und Schweinen (4, 6, 10). Diese haemagglutinierende Aktivität des Virus wird durch die spezifischen Antikörper in ND-Immunseren gehemmt. Auf diesen Eigenschaften von Virus bzw. Antikörper beruhen die diagnostischen Möglichkeiten zum Nachweis der ND. Zur spezifischen Diagnostik stehen die Virusisolation aus dem verdächtigen Material und serologische Methoden zur Verfügung.

Der direkte Nachweis des ND-Virus kann mit Hilfe des Tierversuches und der Eikultur erfolgen. Zum Tierversuch eignen sich am besten Küken oder Junghühner, wobei bei Küken unter 3 Wochen darauf geachtet werden muß, daß sie keine maternale Immunität aufweisen. Wegen des hohen

Aufwandes wurde der Tierversuch in den letzten Jahren immer mehr durch den Virusnachweis in der Eikultur ersetzt (17). Das virushaltige Material wird dazu in die Chorio-Allantois-Höhle empfänglicher Eier injiziert. Aus Eikulturen, die ab dem 2. Tag p. inf. absterben, wird die agglutinierende Aktivität der Allantoisflüssigkeit gegenüber Hühnererythrozyten geprüft.

Dieser Virus-Nachweis im Haemagglutinationstest (HA-Test) hat in der ND-Diagnostik große praktische Bedeutung erlangt. Der von Hirst (15, 16) erarbeitete HA-Test wurde von Lush (21) in die ND-Diagnostik eingeführt. Beim HA-Test werden gewaschenen Hühnererythrozyten steigende Verdünnungen von virushaltiger Eiflüssigkeit zugesetzt. Als Endpunkt gilt jene Virusverdünnung, die noch eine deutliche Agglutination bewirkt. Die Probe kann als Plattenmethode auf Objektträgern, in Agglutinationsröhrchen und in Salk-Platten durchgeführt werden.

Dem direkten Virus-Nachweis steht in der ND-Diagnostik der Nachweis von Serum-Antikörpern gegenüber.

Neutralisierende Serum-Antikörper werden im Serum-neutralisationstest (SN-Test) nachgewiesen. Dazu werden 8 - 11 Tage bebrütete Hühnereier verwendet, denen ein Gemisch aus Serum und Virusverdünnung injiziert wird. Endpunkt ist jene Virusverdünnung, die noch von den vorhandenen Serum-Antikörpern neutralisiert wird. In die serologische Diagnostik der ND eingeführt wurde dieses Verfahren von Minard und Jungherr (23).

Größere praktische Bedeutung hat jedoch der Nachweis von haemagglutinationshemmenden Serum-Antikörpern im Haemagglutinations-Hemmungs-Test (HAH-Test) er-

langt. Zwei Verfahren werden zur Durchführung des HAH-Test verwandt. Beim sog. α -Verfahren (5, 8) werden stufenweise Virusverdünnungen mit gleichbleibenden Serum-mengen versetzt.

Beim β -Verfahren (7) wird das stufenweise verdünnte Serum mit einer konstanten Menge einer Viruskonzentration versetzt, die im allgemeinen auf 4 haemagglutinierende Einheiten eingestellt ist. Zur Sichtbarmachung der Reaktion werden gewaschene Hühnererythrozyten beigegeben. Auch der HAH-Test kann auf Objektträgern, in Agglutinationsröhrchen oder Salk-Platten durchgeführt werden.

Nach Kaleta und Siegmann (18) besteht eine enge Korrelation zwischen HAH- und SN-Test. Die Autoren hatten in insgesamt 1200 Seren die im HAH- und VN-Test nachweisbaren Antikörper ermittelt. Für alle Tiere ergab sich, daß mit Ansteigen des HAH-Titers die Neutralisation-Indices ebenfalls zunehmen.

In den bisher üblichen und hier beschriebenen Methoden wurden ND-Antikörper im Serum nachgewiesen. Da bekannt ist, daß maternale Antikörper über den Dotter an Küken weitergegeben werden (2, 3, 20), interessiert die Frage des Antikörperspiegels im Eidotter und deren Nachweis im Vergleich zum Serum-Antikörperspiegel.

Nach Higgins (14) sind Globuline ab dem 14. Tag im Embryo nachweisbar.

Zur Dotter-Untersuchung wurde bisher im Allgemeinen der Dotter vor der Untersuchung mit Aether und Äthylen-dichlorid zur Fettextraktion behandelt. Schmittle und Mil-len (28) stellten die ersten Vergleichsuntersuchungen mit vorbehandeltem Dotter an. Sie arbeiteten dabei nach fol-

gender Technik: Nach Durchstechen der Dottermembran werden 1,5 ml Dotter entnommen und in einem Röhrchen mit 6 ml einer 0,85 %igen NaCl-Lösung eine Verdünnung 1:5 hergestellt. Diese Mischung wird solange geschüttelt bis sie homogen ist. Anschließend gibt man zu dem verdünnten Dotter 2 ml Äthylendichlorid und 1 ml Äther und schüttelt den Inhalt. Die Mischung wird etwa 12 Stunden in einem Brutschrank bei 37°C gehalten und danach 10 Minuten bei 1 000 U/Min. zentrifugiert. Die Äthylendichlorid-Fraktion sammelt sich am Boden des Röhrchens und ist von der wässrigen Lösung durch einen Fettring getrennt. Der Überstand, eine 1 : 5 Verdünnung des Dotters, wird dann zum HAH-Test verwandt. Die Autoren untersuchten 118 Eidotter von 24 Hennen, bei denen im Serum keine Antikörper nachweisbar waren. Auch in allen 118 Dotterproben waren im HAH-Test keine Antikörper nachweisbar. Von 25 Hennen, bei denen im Serum ND-Antikörper nachgewiesen wurden, wurden 65 Dotterproben mit positivem Befund ermittelt. Bei ihren Vergleichsuntersuchungen geben die Autoren keine Titerwerte an, weisen jedoch darauf hin, daß die Dotter-Titer nur in wenigen Fällen niedriger waren als die Serum-Titer.

Schmittle (27) führte in der Folge weitere vergleichende Untersuchungen durch. Bei 49 Hennen, die frei von ND waren, konnte weder im Serum noch im vorhandenen Eidotter ein positiver HAH-Titer festgestellt werden.

Bei weiteren 149 Hennen, natürlich oder experimentell mit ND infiziert, waren in 96,3% der Fälle die Serum- und Dotter-Titer positiv; bei 1,4% waren beide Titer negativ und in 2,3% der Serum-Titer positiv bei gleichzeitig negativem Dotter-Titer. Bei 54,4% der Vergleichs-

paare waren beide Titer gleich hoch, bei 37,5% war der Serum-Titer höher als der Dotter-Titer und bei 4,4% war der Dotter-Titer höher als der Serum-Titer.

Bornstein et al. (2) arbeiteten mit 4 Versuchstieren, wobei sie 43 Serumproben mit den dazugehörigen Dotterproben nach Vorbehandlung des Dotters verglichen. Nach ihren Ergebnissen ist in allen Fällen, in denen Serum- und Dotter-Titer nicht übereinstimmten, der Dotter-Titer höher. In den meisten Fällen jedoch waren beide Titer identisch. Die höheren Dotter-Titer sind nach ihrer Ansicht durch die Vermischung bzw. Verunreinigung von Dotter mit Eiweiß bedingt

Grun and Wogan(12) verglichen den Serum-Titer von 8 Zuchthennen mit dem zugehörigen Dotter-Titer der von diesen Tieren erbrüteten Küken. Sie entnahmen Dotterproben aus dem Dottersack der Eintagsküken. In einem Fall war der Serum-Titer gleich dem Dotter-Titer, im übrigen war der Serum-Titer höher als der Dotter-Titer.

Rossi et al. (26) teilen mit, daß bei ihren Untersuchungen der Serum-Titer in sämtlichen untersuchten Fällen meist niedriger war. Genaue Zahlenangaben liegen von diesen Autoren nicht vor.

Im Gegensatz zu dieser Technik mit vorbehandeltem Dotter bestimmten Wills and Luginbuhl (32) den Antikörpertiter von unbehandeltem Eidotter im Platten-HAH-Test. Der Dotter wurde mit Phosphatpuffer (ph 7,0) verdünnt. Ein Tropfen von jeder Dotterverdünnung wurde zu einem Tropfen Virusverdünnung mit 2 oder 4 HA-Einheiten gegeben. Diese Mischung wurde geschüttelt und bei Raumtemperatur stehengelassen. Nach 10 Minuten wurden

2 Tropfen einer 1,5 %igen Erythrozytensuspension hinzugefügt. Der Titer der höchsten Dotterverdünnung, der eine Haemagglutination verhinderte, wurde mit der Zahl der HA-Einheiten multipliziert und so der HAH-Titer errechnet.

Bei Verfolgung des maternalen Antikörper-Spiegels im embryonierten Ei stellen Bornstein et al. (2) fest, daß der maternale Dotter-Titer während der Brut konstant bleibt und der Serum-Titer des Embryo diese Höhe nicht erreicht. Die Serum-Titer der Küken erreichten in der Mehrzahl der untersuchten Fälle ihre höchsten Titerwerte 2 - 3 Tage nach dem Schlupf oder später, um dann relativ schnell abzufallen.

Grun and Wogan (12) bebrüteten 19 Eier von 6 immunisierten Hühnern, deren Serum-Titer sie vorher bestimmt hatten und bestimmten am Tag des Schlupfes den ND-Titer im Küken-Serum. Bei drei Küken war der Serum-Titer gleich dem Serum-Titer der entsprechenden Henne; in allen anderen Fällen lag der Serum-Titer der Küken unter dem der Hennen.

Kaleta (17) bestimmte an zwei Gruppen Eintagsküken (Gruppe A: 420 Eintagsküken; Gruppe B: 750 Eintagsküken) von immunisierten Elterntieren die ND-spezifischen maternalen Antikörper. Je 30 dieser Küken der Gruppe A und je 50 Küken der Gruppe B wurden an verschiedenen Lebenstagen ausgeblutet und das Serum im HAH-Test untersucht. Dabei erreichten die nachgewiesenen Antikörper ihre höchste Blutserumkonzentration nicht zum Zeitpunkt des Schlupfes, sondern erst drei Tage (Gruppe A) nach dem Schlupf bzw. 3 1/2 Tage nach dem Schlupf (Gruppe B). In den folgenden Tagen sanken

die maternalen Antikörper relativ gleichförmig ab.

Schmittle (27) fand bei seinen Arbeiten zum Serum- und Dotter-Titer-Vergleich, daß Eiweiß, mit dem die Dotterprobe bei der Entnahme verunreinigt wird, das Ergebnis des HAH-Testes beeinträchtigt. Von 56 getesteten ND-antikörperfreien Eiern trat nach Zugabe von Albumin bei 42 Dotterproben ein positiver HAH-Titer auf. Auch Lanni and Beard (22) berichteten über eine Hemmung der haemagglutinierenden Aktivität von Schweine-Influenza-Virus durch Hühner-Eiweiß.

Feeney und Mitarbeiter (9) unterscheiden zwischen einer dickflüssigen und einer dünnflüssigen Eiweißfraktion bezüglich der Haemagglutinationshemmung. Die Hemmwirkung der dickflüssigen Fraktion ist etwa vierfach stärker als die der dünnflüssigen Fraktion.

Über die Anzahl einer notwendigen Stichprobengröße zur Immunitäts-Kontrolle der Herde liegen Angaben von Siegmann und Kaleta (30) vor. Diese Autoren hatten den Serum-Titer von ND-vaccinierten Hühnern untersucht und festgestellt, daß die serologische Untersuchung von 25 stichprobenartig ausgewählten Impflingen ausreicht, um den Immunstatus einer Herde mit 95 %iger Sicherheit beurteilen zu können. Kaleta (17) bestimmte den Serum-Titer von Küken immunisierter Elterntiere. Aus einer Gruppe A (420 Küken) wurden 30, aus einer Gruppe B (750 Küken) von 50 Küken der Serum-Titer im HAH-Test bestimmt. Beim Vergleich der Werte zeigte sich, daß eine Vergrößerung des Stichprobenumfanges von 30 auf 50 zu keiner erheblich größeren statistischen Sicherheit führt. Voraussetzung für eine statistisch gesicherte Aussage ist jedoch die normale Verteilung der ermittel-

ten Einzelwerte. Eine bi- oder polymodale Verteilung schließt eine statistisch gesicherte Aussage aus. Liegt eine Normalverteilung nicht vor, so kann vermutet werden, daß in der Herde keine belastbare Immunität vorhanden ist.

Da in den eigenen Untersuchungen sämtliche Titerwerte in Titerkennzahlen (TKZ) angegeben werden, ist es notwendig, diesen Begriff zu erläutern. Nach Kaleta und Siegmann (18) versteht man unter dem Titer beim HAH-Test die letzte Serumverdünnungsstufe, bei der noch eine vollständige HA-Hemmung auftritt. Die auf diese Weise abgelesenen Titer sind als Glieder einer reziproken Potenzreihe der Basis 2 aufzufassen. Man kann die Titer auch durch den Logarithmus zur Basis 2 kennzeichnen. Die Angabe des Serum-Titers durch den negativen Logarithmus zur Basis 2 hat den Vorteil, daß extrem hochtitrige Seren in einer Stichprobe auf die Mittelwertberechnung geringeren Einfluß haben. Da ferner mit zunehmender Serumverdünnung der Meßfehler wächst, kann sich dieser nicht so gravierend auswirken. Die einfache Transformation der Titer in die Logarithmen zur Basis 2 kann jedoch nach Angaben der Autoren nicht ganz befriedigen, da das Untersuchungsergebnis eines verdünnten Serums positiv oder negativ ausfallen kann. Wird der negative Logarithmus zu Basis 2 jedoch um den Summanden Eins vergrößert und mit Eins multipliziert, dann können alle Untersuchungsergebnisse in Form einer ganzen rationalen Zahl, der Titerkennzahl, ausgedrückt werden. Dadurch wird erreicht, daß sich aus der asymmetrischen Verteilung der Titer einer untersuchten Stichprobe eine Normalverteilung ergibt.

Serumverdünnung	Δ	Titerkennzahl (TKZ)
1:2		2
1:4		3
1:8		4
1:16		5
1:32		6
1:64		7
1:128		8
1:256		9
1:512		10
1:1024		11
1:2048		12

C. Eigene Untersuchungen:

I. Material und Methoden

1. Vergleichende Serum-Dotter-Untersuchung

a) Versuchstiere:

Als Versuchstiere standen 28 Hybrid-Legehennen im 1. Legejahr zur Verfügung, davon sechs als Kontrolltiere. Sie wurden in Einzelkäfigen in einem über eine Schleuse begehbaren Isolierstall mit schwebstoffgefilterter Zuluft bei konstanter Raumtemperatur von 18°C gehalten. Futter und Wasser standen zur freien Verfügung. Gefüttert wurde Legehennen-Alleinemehl L/II (nach DLG-Standard).

Die Versuchstiere erhielten während der Aufzucht und Legeperiode keine ND-Impfung und hatten zu Versuchsbeginn keinen ND-Antikörper-Titer im Serum und im Eidotter. Zu Versuchsbeginn wurde 22 Versuchstieren zur Erzielung eines hohen Titers 2 x 2 ml ND Adsorbat-Totimpfstoff (Fa. Rentschler Warthausen) i.m. im Abstand von einer Woche injiziert; 6 Kontrolltiere wurden ohne Impfung gehalten. 5 Versuchstiere wurden 72 Tage nach der 2. Impfung nochmals mit 2 ml Adsorbat-Totimpfstoff geimpft.

b) Blutentnahme:

Bei 11 Versuchstieren wurden ab 7. Tag und bei den übrigen 11 Versuchstieren ab 13. Tag p. vacc. Blutentnahmen vorgenommen. Um die Legeleistung der Versuchstiere nicht negativ zu beeinflussen, wurde nur im Abstand von 3 bzw. 4 Tagen Blut entnommen. Zu jeder Blutprobe wurde das zum jeweiligen Tier gehörende Ei

vom gleichen Tag zu weiteren Untersuchungen entnommen. Zur Blutentnahme wurde die Flügelvene punktiert und 2 - 3 ml Blut in einem Einwegglasröhrchen aufgefangen. Anschließend wurde das Blut im Brutschrank ca. 2 Std. bei 37°C gehalten, dann 15 Min. bei 2500 U/Min. zentrifugiert. Das überstehende Serum wurde abpipetiert und eine 1 : 2 Verdünnung mit Phosphatpuffer (ph 7, 2 - 7, 4) hergestellt.

c) Gewinnung der Eidotter:

Zur gründlichen Trennung von Eiweiß und Eidotter der kurz nach dem Legen entnommenen Eier wurden praxisübliche Plastik-Eierhöcker verwendet, die umgekehrt auf einem Rahmen aufgelegt wurden. Nach Aufschlagen der Eischale wurde Eiweiß und Eidotter in die Vertiefung des Eihöckers gekippt. Das Eiweiß läuft dabei vollständig aus dem perforierten Eihöcker ab, während der Eidotter im Eihöcker zurückgehalten wird. Mit dem Konus einer graduierten Spritze ohne aufgesetzte Kanüle wurde die Dotterhaut durchstoßen und Dotter aufgezo-gen. Jede Dotterprobe wurde in ein Einwegglasröhrchen mit vorgelegtem Phosphatpuffer (ph 7, 2 - 7, 4) gegeben. Über den vorgelegten Phosphatpuffer wurde der Eidotter 1 : 2 verdünnt und das Gemisch bis zur homogenen Verteilung kräftig geschüttelt.

Mit der gleichen Technik wurden die Dotter von SPF-Eiern (Valo) vom Eiweiß getrennt und der Dotter mit Phosphatpuffer homogen vermischt.

d) Haemagglutinationshemmungs-Test:

Gewinnung von Erythrozyten und Herstellung der Erythrozytenlösung

Zu 1 ml 3,8 %igem Natriumzitrat werden 5 ml Hühnerblut gegeben. Diese Mischung wird 5 Minuten bei 2000 - 3000 U/Min. zentrifugiert und der entstehende Überstand verworfen. Das Sediment wird insgesamt 3 mal mit 0,85 %iger NaCl-Lösung ausgewaschen und der Überstand jeweils abgegossen. Aus dem gewonnenen Sediment wird eine 10 %ige Suspension als Vorratslösung hergestellt. Als Gebrauchslösung dient eine 1 %ige Lösung. Diese Erythrozyten-Gebrauchslösung wird täglich auf ihre Tauglichkeit überprüft.

Einstellung der Antigen-Gebrauchslösung auf vier haemagglutinierende Einheiten

In einer Salk-Platte wird aus dem zu prüfenden Antigen eine Verdünnungsreihe in 2-er Potenzen erstellt. Anschließend fügt man zu jeder Verdünnung 0,25 ml Puffer und als Indikator 0,5 ml der 1 %igen Erythrozyten-Suspension. Die Ablesung erfolgt nach 45 Minuten Reaktionszeit bei Zimmertemperatur. Die letzte Verdünnungsstufe, in der Erythrozyten noch agglutiniert werden, enthält 1 HA-Einheit, die vorletzte enthält 2 HA-Einheiten, die drittletzte Verdünnung enthält dann 4 HA-Einheiten.

Ausführung des Haemagglutinations-Hemmungstestes

Mit dem Untersuchungsmaterial - Serum- bzw. Dotterverdünnung 1:2 - wird eine Verdünnungsreihe hergestellt. Ab dem zweiten Napf werden 0,25 ml Pufferlösung vorgelegt. In den ersten und zweiten Napf werden je 0,25 ml

Serum- bzw. Dotter-Verdünnung pipettiert. Ausgehend vom zweiten Napf werden 0,25 ml des Puffer-Serum bzw. des Puffer-Dottergemisches in den nächsten Napf übertragen und dies bis zum Ende der Verdünnungsreihe fortgesetzt. Zu jedem Napf gibt man 0,25 ml der Antigen-Gebrauchsverdünnung. Nach 10 Min. Wartezeit bei Zimmertemperatur werden je Napf 0,5 ml der 1 %igen Erythrozyten-Gebrauchslösung pipettiert. Als Endtiter bezeichnet man die Verdünnung die keine Agglutination der Erythrozyten zeigt. Der HAH-Test wurde auf Makro-Kunststoffeinwegplatten (Fa. Greiner u. Söhne, Nürtingen) durchgeführt. Nach 45 Min. wurden die Ergebnisse abgelesen. Dazu wurde bei Dotteruntersuchungen die Platte über einem waagrecht liegenden Spiegel schräg gehalten, sodaß Sedimentation oder Agglutination der Erythrozyten abgelesen werden konnte. Diese Ablestechnik ist notwendig, da der Dotter in den niederen Verdünnungsstufen nur wenig transparent ist. Die Ergebnisse wurden in TKZ registriert. Sämtliche Proben wurden innerhalb von 24 Stunden nach Serumentnahme bzw. Eiablage aufgearbeitet.

2. Vergleichende Eidotter- und Küken Serum-Titerbestimmung

Aus 11 ND-immunisierten Elterntierherden des Legetyps wurden je 30 Eier stichprobenartig entnommen und die Dotter-Titer bestimmt. Von den gleichen Herden und vom gleichen Datum stammende Eier wurden in den betreffenden Zuchtbetrieben erbrütet. Einen Tag nach dem jeweiligen Schlupf wurden 30 Hahnenküken zur Blutentnahme getötet. Aus 4 dieser 11 Zuchtherden wurden jeweils 90 Eintagshahnenküken entnommen und da-

von am 1., 2. und 3. Lebenstag je 30 Küken zur Blutentnahme getötet.

3. Einfluß des Eiweiß auf den Haemagglutinations-Hemmungstest

Zur Überprüfung des Einflusses von Eiweiß auf den HAH-Test wurden 43 Eier von 8 Hühnern verwendet, die negative HAH-Titer besaßen. Dazu wurden die Eier aufgeschlagen und Eiweiß sowie Dotter getrennt aufgefangen. Geprüft wurde die HA-hemmende Aktivität von reinem Eiweiß und von Eiweiß-Dottermischungen im Verhältnis von 1 : 2, 1 : 3 und 1 : 4. Vor der Verarbeitung wurde das jeweilige Eiweiß- bzw. Eiweiß-Dotter-Gemisch mit dem Ultraturax homogenisiert.

II. Ergebnisse

1. Vergleichende Serum-Dotter-Untersuchungen

Zu Beginn der Versuchsreihe waren alle 22 Versuchstiere im Serum- und Dotter HAH-Test negativ, d.h. in der Serum- und Dotter-Verdünnung 1 : 2 waren keine Antikörper nachweisbar. Alle 6 Kontrolltiere wiesen während der ganzen Versuchsperiode negative Serum- und Dotter-Titer auf (Tab. 1).

Die Verdünnung 1 : 2 mußte als Mindest-Verdünnung gewählt werden, da wegen der niedrigen Viskosität des Dotters dieser nicht als Konzentrat im HAH-Test verwendet werden konnte.

Bei Verwendung von SPF Eiern (Valo) zum Eidottertest treten bei dieser Verdünnungsstufe keine positiven Titer auf (Tab. 2).

Versuchs- tier	Tage nach Versuchsbeginn:													
	5	9	13	16	23	30	36	43	50	57	61	63	75	
24	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
24	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
25	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
26	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
27	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
28	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	

Tab. 1:

Dotter-Titer (TKZ) von 6 Kontrolltieren während des Versuchsablaufes

(Alle Dotter in der Verdünnung 1 : 2 (TKZ) negativ)

<u>Ei-Nr.</u> -----	<u>Titer</u>
1	2
2	2
3	2
4	2
5	2
6	2
7	2

Tab. 2:Dotter-Titer (TKZ) von 7 SPF-Eiern (Valo)

Bei der ersten Blutentnahme 7 Tage p. vacc. wurde an 11 Versuchstieren ein positiver Serum-HAH-Titer ermittelt, der um den 13. Tag sein Maximum (TKZ 10 - 12) erreicht hatte. Dies traf auch für die restlichen 11 Versuchstiere zu, bei denen am 13. Versuchstag die 1. Blutentnahme erfolgte. Der HAH-Test bei den Dotterproben war am 7. Tag p. vacc. bei allen Tieren noch negativ. Die Dotter-Titer erreichten ihre höchsten Titerwerte (TKZ 10 - 12) ab dem 18. bis spätestens 25. Tag p.vacc. Nachdem Serum- und Dotter-Titer ihr Maximum erreicht hatten, sanken beide Titer leicht ab und pendelten sich auf eine TKZ zwischen 7 und 10 ein. (Abb. 1, 2, 3, 4)

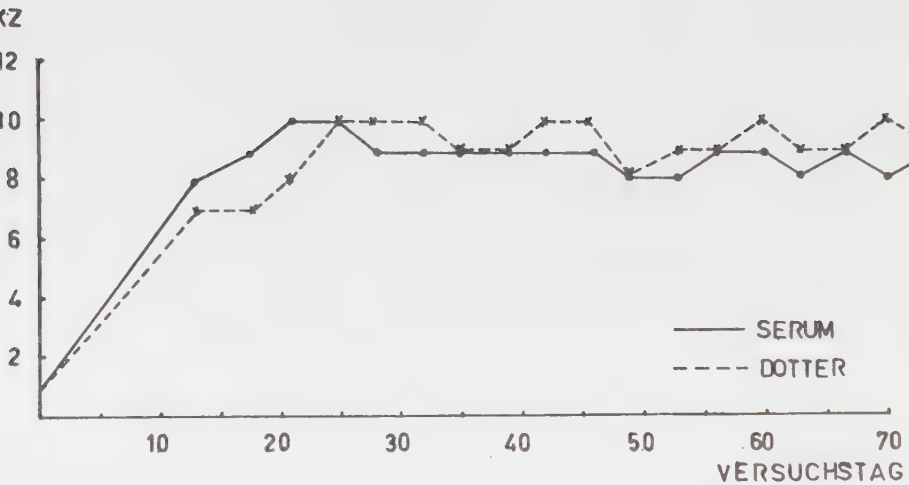


Abb.: 1 Graphische Darstellung von Eidotter- und
Serumtiter-Verlaufskurven
 (Versuchstier Nr. 12)

Die Boosterung von 5 Versuchstieren am 80. Versuchstag zeigt ebenfalls einen schnelleren Serum-Antikörperanstieg als dies beim Dotter nachzuweisen war.

(Abb. 3 und 4)

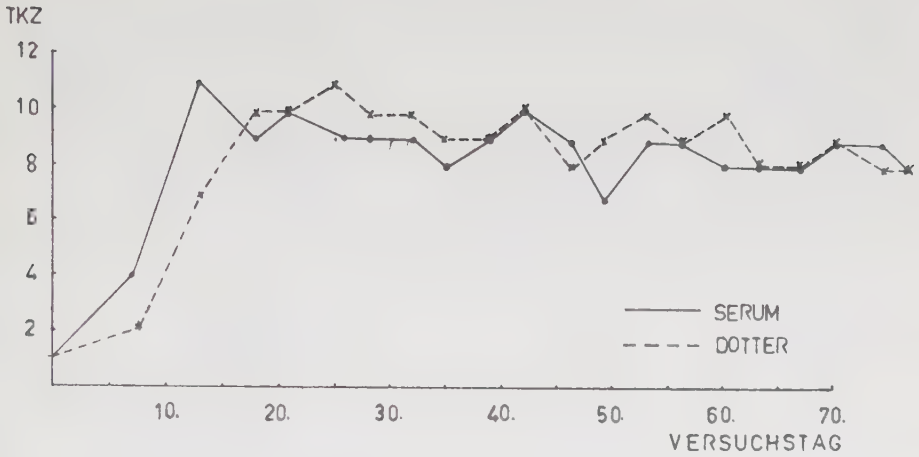


Abb.: 2 Graphische Darstellung von Eidotter- und Serumtiter-Verlaufskurven (Versuchstier Nr. 3)

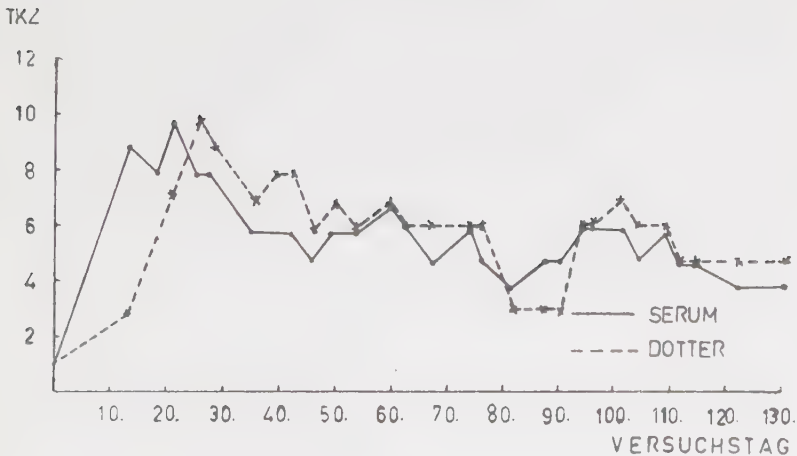


Abb.: 3 Graphische Darstellung von Eidotter- und Serumtiter-Verlaufskurven mit Boosterung am 80. Versuchstag. (Versuchstier Nr. 17)

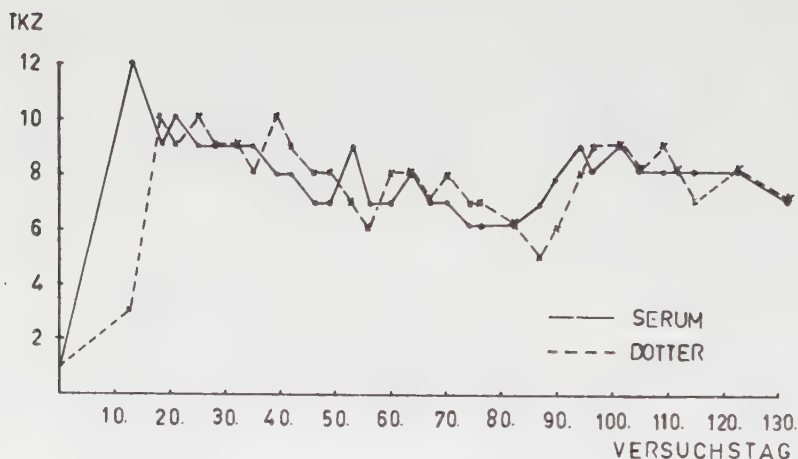


Abb.: 4 Graphische Darstellung von Eidotter- und Serumtiter-Verlaufskurven mit Boosterung am 80. Versuchstag (Versuchstier Nr. 22)

Die einander entsprechenden Titerwerte jedes einzelnen Versuchstieres wurden in TKZ transformiert (Tab. 3) und im t-Test statistisch verglichen. Dabei wurden die bis zum 18. Versuchstag divergierenden Titer nicht berücksichtigt. Ein statistischer Vergleich der Titerwerte erfolgte erst ab dem 18. Versuchstag. Zu diesem Zeitpunkt hatten die Titer vergleichbares Niveau erreicht. Die statistische Berechnung erfolgte nach Welch (31).

In Tabelle 4 ist die statistische Auswertung aufgeführt. Bei 5 Versuchstieren (Versuchstier Nr. 5, 7, 8, 9, 18) weichen die vergleichbaren Serum-Dotterwerte unter Berücksichtigung der Verlaufskurven statistisch gesichert ab. Bei 17 Versuchstieren stimmen die Vergleichswerte hoch signifikant gesichert überein.

Versuchs- tier	Dotter		Serum		statistisch gesicherte Abweichung
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	
1	10,06	$\pm 0,86$	10,06	$\pm 1,12$	--*)
2	10,83	$\pm 0,67$	10,66	$\pm 0,77$	--
3	9,22	$\pm 0,94$	8,72	$\pm 0,77$	--
4	8,72	$\pm 1,27$	8,61	$\pm 0,61$	--
5	7,39	$\pm 0,78$	6,17	$\pm 0,78$	p < 0,001
6	9,0	$\pm 1,56$	8,12	$\pm 1,49$	--
7	8,35	$\pm 1,06$	7,55	$\pm 1,20$	p < 0,05
8	4,33	$\pm 1,28$	5,33	$\pm 1,23$	p < 0,05
9	8,0	$\pm 1,03$	6,94	$\pm 1,16$	p < 0,01
10	6,68	$\pm 1,17$	8,0	$\pm 1,24$	--
11	8,41	$\pm 0,93$	8,17	$\pm 1,26$	--
12	9,23	$\pm 0,82$	8,88	$\pm 0,70$	--
13	8,11	$\pm 1,02$	7,83	$\pm 1,11$	--
14	9,94	$\pm 1,27$	9,27	$\pm 1,07$	--
15	8,37	$\pm 0,76$	8,12	$\pm 0,57$	--
16	10,72	$\pm 1,28$	11,16	$\pm 0,79$	--
17	7,13	$\pm 1,25$	6,53	$\pm 1,41$	--
18	9,11	$\pm 1,08$	7,72	$\pm 1,02$	p < 0,001
19	8,05	$\pm 1,02$	7,52	$\pm 0,87$	--
20	8,06	$\pm 0,77$	7,53	$\pm 0,90$	--
21	9,17	$\pm 1,22$	8,88	$\pm 0,99$	--
22	8,22	$\pm 1,16$	7,88	$\pm 1,22$	--

*) keine gesicherte Abweichung

Tab.: 4 Mittelwerte ($\bar{x}$), Streuung (s) und statistische Sicherung
der vergleichenden Haemagglutinations-Hemmungsteste.

2. Vergleichende Untersuchungen Eidotter- und Küken-Serum-Titer

Bei allen 11 untersuchten Gruppen war am ersten Tag nach dem Schlupf der arithmetische Mittelwert der Titer der Küken niedriger als der Mittelwert-Titer der entsprechenden Eidotter. Die Differenzen der arithmetischen Mittelwerte vom Serum- zum Dotter-Titer schwankten zwischen TKZ 0,4 und 3,0. Die statistische Auswertung zeigt allerdings, daß nur in 7 von 11 Herden diese Titer-Unterschiede gesichert sind.

Bei 4 Herden wurden neben dem Dotter-Titer die Serum-Titer von je 30, drei Wochen später geschlüpften Küken, am 1., 2. und 3. Tag nach dem Schlupf bestimmt. Drei der 4 Gruppen hatten am 2. Tag nach dem Schlupf das Titer-Maximum erreicht. Bei der 4. Gruppe war dies am 3. Tag nach dem Schlupf der Fall.

Die Titer-Werte der Dotter- und Serumproben wurden im t-Test verglichen. Mittelwerte, Streuung und statistische Sicherung sind in Tab. 5 angegeben.

Gruppe	Dotter-Titer		S e r u m - T i t e r				Abweichung
	x	s	am 1. Tag	2. Tag	3. Tag		
			x <td>s<td>x<td>s</td></td></td>	s <td>x<td>s</td></td>	x <td>s</td>	s	
1	5,379	± 1,4979	4,241	± 1,184		p < 0,01	
2	6,266	± 1,4368	3,833	± 1,3152		p < 0,001	
			4,10	± 1,493		p < 0,001	
					4,033	± 1,351	
3	4,366	± 1,473	3,866	± 1,547		p > 0,05	
4	4,2	± 1,399	3,033	± 1,0661		p < 0,01	
5	4,3	± 0,9153	3,733	± 1,3373		p > 0,05	
6	3,862	± 1,0255	3,133	± 1,105		p < 0,05	
7	5,366	± 1,847	4,866	± 1,252		p > 0,05	
			4,766	± 1,357		p > 0,05	
					3,384	± 1,911	
8	6,733	± 1,460	5,166	± 1,683		p < 0,001	
9	6,793	± 1,589	3,80	± 2,1074		p < 0,001	
			4,766	± 1,357		p < 0,001	
					3,384	± 1,911	
10	5,206	± 2,210	4,1	± 1,155		p < 0,05	
			4,133	± 0,9371		p < 0,05	
					4,233	± 1,501	
11	4,666	± 0,802	4,266	± 1,337		p > 0,05	

Tab. 5 Statistischer Vergleich von Dotter und Serum-Küken-Titer (TKZ)

Die statistische Auswertung der Verfolguntersuchungen (Serum-Titer) am 1., 2. und 3. Lebenstag gibt im Vergleich zur Eidotterbestimmung ein uneinheitliches Bild. Nur bei 2 von 4 Versuchsgruppen sind die Serum-Titer am 1., 2. und 3. Tag signifikant different vom Dotter-Titer. Bei der Gruppe 7 sinkt erst am 3. Tag der Serum-Titer signifikant unter den Dotter-Titer. Bei der Gruppe 10 nähert sich der Serum-Titer am 3. Tag dem Dotter-Titer, d.h. die Abweichung der Mittelwerte ist nicht mehr gesichert.

3. Einfluß des Eiweiß auf den HAH-Test

Die HA-hemmende Aktivität des Eiweiß wurde an 43 Eiern von 8 nicht vaccinierten Tieren untersucht. Die Dotter-Titer aller Tiere waren negativ. Bei Ersatz des Dotters durch Eiweiß im HAH-Test wurden Hemm-Titer erzielt, die mit allen untersuchten Eiweißproben Titerkennzahlen zwischen 8 und 11 ergaben. (Tab. 6)

Versuchstier	Titer (TKZ)			Titer (TKZ)			
	Dotter			Eiweißprobe			
A	2	9	8	9	9		9
B	2		9	9	9	9	9
C	2		9	9	8	9	10
D	2	9	10	10	10	10	10
E	2	11	11	11		11	10
F	2	10	9	9	10	9	9
G	2	9	10	9	9	9	9
H	2	10	10	10		11	11

Tab. 6: Unspezifische Hemmwirkung von Eiweiß im HAH-Test

In Tab. 7 ist an 6 Versuchstieren nochmals die Hemmwirkung des Eiweiß im Vergleich zum ND-antikörperfreien Eidotter dargestellt. Gleichzeitig zeigt diese Tabelle die sinkende Tendenz dieser Hemmwirkung, wenn dem Eiweißanteil steigende Dotterkonzentrationen beigemischt werden. Es ergibt sich durch die Dottermischung ein stufenweiser Abfall des Titters im HAH-Test.

Versuchstier	Dotter	Eiw.	Eiweiß-Dotter		
			1:2	1:3	1:4
A	2	9	7	6	3
B	2	9	6	6	5
C	2	8	6	5	4
D	2	10	7	6	5
E	2	11	8	7	6
G	2	9	6	5	4

Tab. 7: Titerverlauf bei Dotter-Eiweiß-Mischungen (TKZ)
 (Alle Dotter in der Verdünnung 1:2 (TKZ 2)
 negativ).

Ver- suchs- tiere	13.	18.	21.	25.	28.	32.	35.	39.	42.	46.	49.	53.	56.	60.	63.	67.	70.	74.	76.
1		11	11	11	11	11	11	11	10	9	8	10	11	9	9	9	9	10	
2	10	11	11	11	11	11	10	11	11	10	9	11	11	11	10	10	10	11	11
3	11	9	10	10	9	10	8	9	10	9	7	10	9	8	8	8	9	9	8
4	11	9	9	9	10	10	9	10	9	7	10	9	8	8	8	8	8	8	8
5	9	6	7	9	6	6	6	6	9	6	5	6	6	6	6	6	6	6	6
6	12	11	11	10	9	10	7	8	9	7	6	8	7	7	7	7	8	7	
7	11	10	10	10	9	10	7	7	9	7	6	7	7	7	7	7	7	7	7
8	9	6	6	7	6	7	6	4	6	4	4	6	5	5	4	5	4	5	4
9	10	8	10	9	8	9	7	7	7	7	5	6	7	7	5	6	7	6	6
10	12	10	10	10	9	10		8	8	8	7	8	8	8	8	7	8	7	7
11	11	10	10	10	8	10	8	8	9	7	6	8	8	9	7	7	7	7	7
12	8	9	10	10	9	10	9	9	10	10	8	8	9	9	8	9	8	9	9
13	10	9	10	9	9	9	9	8	9	7	6	7	8	7	7	7	7	7	7
14	8	11	11	10	10	10	8	9	10	10	10	10	9	10	9	8	9	9	8
15	11	8	9	9	9	9	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
16	12	12	12	12	12	12	11	11	11	11	11	10	11	11	11	11	11	11	11
17	9	8	10	8	8	9	6	6	6	5	6	6	7	7	6	6	6	6	6
18	11	12	10	10	10	10	8	8	10	10	7	9	7	8	9	7	7	6	7
19	9	9	10	10	9	8	7	7	7	7	7	8	7	8	7	7	7	7	7
20	10	8	9	8		9	8	8	8	7	6	8	7	8	8		7	6	
21	11	9	10	11		11	9	9	10	8	7	10	8	9	9	8	8	8	8
22	12	10	10	10	9	9	8	10	9	7	7	9	7	7	8	7	7	6	6

Tab. 3 Vergleich von Serum- und Dotter-Titer der einzelnen Versuchstiere während des Versuchsverlaufs (Zähler = Serum-Titer-Kennzahl, Nenner = Dotter-Titer-Kennzahl)

D. Diskussion

Mit den vorliegenden Untersuchungen wurde das Verhalten der ND-Antikörper im Eidotter mit dem der Serum-Antikörper bei Legehennen verglichen. Außerdem wurde der Eidotter-Antikörperspiegel bei Legehennen (Elterntieren) mit dem Serum-Antikörperspiegel bei Küken unmittelbar nach dem Schlupf und in den folgenden drei Aufzuchttagen verglichen.

Aus früheren Untersuchungen von Bengelsdorff (1), Grun and Wogan (12), Rossi, Gallardo und Berkoff (26), Schmittle (27), Schmittle and Millen (28), Wills and Luginbuhl (32) war bekannt, daß eine enge Beziehung zwischen Serum- und Dotter-Antikörpern der jeweiligen Tiere besteht. Während bei diesen Untersuchungen im allgemeinen mit Aether und Aethylendichlorid vorbehandeltem Dotter gearbeitet wurde, wurde in den eigenen Untersuchungen auf eine Dottervorbehandlung verzichtet und damit eine arbeitssparende Methode in entsprechenden Versuchsreihen angewendet. In diesen eigenen Untersuchungen wurden in einem Zeitraum von 80 Tagen an 22 Hennen die Titerhöhen im Serum und im Dotter der von diesen Tieren gelegten Eiern ermittelt und die Titerverlaufskurven graphisch dargestellt.

Bis zum 18. Versuchstag divergieren die Titer, d.h. die Serum-Titer der mit Adsorbat-Impfstoff immunisierten Hennen steigen schneller. Die Titer erreichen ihr Maximum 5 Tage vor dem Dotter-Titer der in dieser Zeit gelegten Eier.

Dies bestätigt sich auch bei fünf Versuchstieren die am 80. Tag des Versuches eine Revaccination erhielten. Auch

hier erfolgt der Anstieg der Eidotter-Antikörper um mindestens fünf Tage verzögert gegenüber dem Anstieg der Serum-Antikörper. Unter Berücksichtigung der Angaben von Loesch (20), wonach die intensivste Proteinabgabe aus dem Serum in die Eifollikel ca. vier Tage vor der Ovulation erfolgt und unter Hinzurechnung des Zeitraums der Eibildung von ca. 22 Std. erklärt sich diese Differenz im Antikörperanstieg. Ab dem 18. Versuchstag erreichen die Titer vergleichbares Niveau und stimmen in ihrem Verlauf statistisch gesichert bei 17 von 22 Versuchstieren überein. Nur bei fünf Versuchstieren ergeben sich trotz graphisch weitgehend übereinstimmendem Verlauf ausgeprägtere Titerdifferenzen, deren Abweichung statistisch gesichert ist. Trotz des abweichenden Verhaltens einzelner Titerwerte ließ sich auch bei diesen Tieren mit dem Eidottertest das Antikörperverhalten ausreichend kontrollieren.

Außer Bornstein et al. (2) haben die in der eigenen Literatur-Übersicht erfaßten Autoren keine Verlaufsuntersuchungen durchgeführt. Bei der eigenen Arbeit wurden bei allen 22 Versuchstieren über 70 Tage Serum- und Dotter-Titer bestimmt, sodaß für jedes Versuchstier Titer-Verlaufskurven erstellt werden konnten, deren Titer-Werte im t-Test vergleichbar waren.

Die Untersuchungen von Grun and Wogan (12) ergaben einen allgemein niedrigeren Antikörper-Titer im Dottersack von Eintagsküken als im Serum der entsprechenden legenden Hennen.

Nach den eigenen Untersuchungen sind die Eidotter-Antikörperspiegel frisch gelegter Eier statistisch gesichert höher als die Serumwerte der Eintagsküken, die von diesen

Legehennen parallel erbrütet wurden. Die Serum-Titer steigen dann mit zunehmender Resorption des Dottersakes in den folgenden 2 Lebenstagen an. Dieser Titer-Anstieg in den ersten Lebenstagen wurde auch von Kaleta und Siegmann (18) nachgewiesen.

Differierende Aussagen bestehen über die Spezifitätsgrenzen des ND-Antikörpertiters im niedrigen Antikörperbereich. HAH-Titer von 1:8 und niedriger werden von Feeney et al. (9) und von Gratzl und Köhler (11) als unspezifisch gewertet.

Untersuchungen von Kaleta und Siegmann (18) zur Spezifitätsgrenze des HAH-Testes haben dagegen ergeben, daß eine HA-Hemmung auch durch unverdünntes Serum als positive Reaktion zu bewerten ist. Sie führen anderslautende Angaben auf verschiedene Modifikationen aller am HAH-Test beteiligten Variablen und auf subklinische Infektionen der Versuchstiere zurück.

Bei den eigenen Untersuchungen mit SPF-Eiern und Eiern von nicht immunisierten Kontrolltieren waren alle Dotterproben bei einer Verdünnung 1:2 einheitlich negativ. Eine Durchführung des HAH-Testes mit unverdünntem Dotter, und damit eine noch engere Eingrenzung der Spezifitätsgrenze, ist wegen der niedrigen Dotter-Viskosität nicht möglich.

Die eigenen Untersuchungen über den Einfluß von Eiweiß auf den HAH-Test bestätigen den von Schmittle (27) und Lanni and Beard (22) beschriebenen Hemmeffekt. An 43 Eiweißproben verschiedener Eier wurde in den vorliegenden Untersuchungen eine Hemmwirkung des Eiweiß bis zu einer TKZ von 11 im HAH-Test nachgewiesen. Bei Ver-

wendung von ND-Antikörper-negativem Dotter, der in steigenden Mengen zu diesen Eiweißproben zugemischt wurde, sinken die HAH-Titer wieder ab.

Die Verwendung von nicht vorbehandeltem Dotter gestattet nach diesen Untersuchungsergebnissen eine routinemäßig einfach durchzuführende Kontrolle des ND-Antikörperverhaltens legender Herden.

E. Zusammenfassung:

1. In Verfolgungsuntersuchungen wurde der Antikörper-Anstieg und das Antikörper-Niveau vergleichend im Serum und Eidotter legender immunisierter Versuchstiere und entsprechender Kontrolltiere bestimmt.
2. Dazu wurden 1104 Haemagglutinations-Hemmungs-Teste in Serum und Eidotter durchgeführt und das jeweilige Antikörper-Niveau vergleichend statistisch ausgewertet.
3. Im Gegensatz zu den bisher üblichen Dotterextraktionen läßt sich nach den vorliegenden Untersuchungen der unbehandelte Dotter in gleicher Weise und mit hinreichender Sicherheit für die Antikörper-Kontrolle von Legehennen verwenden.

Damit können aufwendige Dotterextraktionen ebenso wie Blutentnahmen zur Serum-Antikörper-Bestimmung im Zuge von Kontrolluntersuchungen zur Erfassung des Newcastle-Immunstatus von Legehennen entfallen.

Summary:

1. In continual researches the antibody-increase and the antibody-level have been determined in serum an egg-yolk of immunized laying experimental animals and compared to corresponding controll-animals.
2. For that purpose 1104 Haemagglutination-inhibition-tests with serum and egg-yolk have been carried out an the respective antibody-level has statistically been analysed.
3. In contrary to yolk-extractions hitherto usual, it is possible - according to the present research- to use the untreated yolk in the same way and with sufficient certainty for antibody-controll of laying-hens. Thus complicated yolk-extractions may be dropped as well as blood-tests in order to determine antibody in serum in the course of controllresearches for registration of the Newcastle immunstatus of laying-hens.

F. Literaturverzeichnis

- 1 Bengelsdorff H. -J.: Experimentelle u. prakt. Erfahrungen mit der Geflügelpest - Lebendvirus - Adsorbatvaccine Galivac^R
Prakt. Tierarzt 37, 26 (1968)
- 2 Bornstein B.S.
Rautenstein-Arazé, A.
Samberg: Some aspects of congenital passive immunity to Newcastle Disease in chicks.
I. The transfer of hemagglutinin inhibitors from maternal yolk to the chick.
Am.J.Vet. Res. 14, 373 - 378 (1952)
- 3 Brandly C.A.
Moses H.E.
Jungherr E.L.: Transmission of antiviral activity via the egg and the role of congenital passive immunity to ND in chickens
Am.J.Vet. Res. 7, 333, (1946)
- 4 Brandly C.A.
Moses H.E.
Jones E.E.
Jungherr E.L.: The isolation and identification of Newcastle - Disease - Virus
Am. J. Vet. Res. 7, 289 (1946)
- 5 Brandly C.A.: Zit. n. Gratzl, Köhler (11)
Spezielle Pathologie und Therapie der Geflügelkrankheiten. S. 202 - 255.
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1968)
- 6 Clark E.
Nagler F.P.O.: Haem-agglutination by viruses
The range of susceptible cells with special reference to agglutination by Vaccinia Virus
Austral J. Exper. Biol. 21, 103 (1943)
- 7 Chu H.P.: A Laboratory Handbook on Diagnosis of Poultry Diseases.
Animal Health Branch Monograph Nr. 2
Rom (1960)
- 8 Fabricant J.: Studies on the diagnosis of Newcastle-Disease and Infectious Bronchitis of fowls
Cornell Vet. 39, 202 (1949)
- 9 Feeney, R.E.
Ducay E.D.
Silva R.B.
Mac Donwell L.R.: Chemistry of shell egg deterioration: the egg white proteins
Poultry Sc. 31, 639 (1932)
- 10 Geurden L.M.G.
Devos A.: Laboratoriumsdiagnose der atypischen Geflügelpest
Wien. Tierärztl. Mschr. 42, 65 (1955)

- 11 Gratzl E.
Köhler H. : Spezielle Pathologie und Therapie der
Geflügelkrankheiten . S. 202 - 255.
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1968)
- 12 Grun J.
Wogan G.N. : Studies on the passive Transfer of im-
munity with Newcastle-Disease-Virus
in relation to deuteotomy
Poultry Sc. 44, 145 (1965)
- 13 Hanson R. P.
Brandly C. A. : Important properties in the Characteri-
zation of Newcastle-Disease-Virus
Poultry Sc. 29, 762 (1950)
- 14 Higgins D. A. : Interaction of lentogenic Newcastle-
Disease-Virus and specific antibodies
within the yolk sac
Avian Disease 14, 565 (1970)
- 15 Hirst G. K. : The agglutination of red cells by allantoic
fluid of chick embryos infected with In-
fluenza-Virus
Science 94, 22 (1941)
- 16 Hirst G. K. : Zit. n. Gratzl, Köhler (11)
Spezielle Pathologie und Therapie der
Geflügelkrankheiten. S. 202 - 255.
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1968)
- 17 Kaleta E. F. : Kinetik der NDV-spezifischen Antikör-
per in Hühnern;
III Elimination der maternalen Anti-
körper der Hühnerküken
DTW 8, 184 (1973)
- 18 Kaleta E. F. ,
Siegmann O. : Vergleichende Untersuchungen über den
Nachweis hämagglutinationshemmender
und virusneutralisierender Antikörper
nach Vaccinationen gegen Newcastle-
Disease.
Archiv f. Geflügelkunde 2, 79, 1971
- 19 Levine P. P.
Fabricant J. : Susceptibility to Newcastle-Infection of
chicks with congenital serum
Cornell Vet. 40, 213 (1950)
- 20 Loesch U. : Zur Charakterisierung einer erblichen
Dysgammaglobulinaemie
med.vet. Habilitationsschrift München
(1972)
- 21 Lush S. : The ckick red cell agglutination test
with the viruses of Newcastle-Disease
and Fowl Plague
J. Comp. Path. and Therap. 53 157
(1943)

- 22 Lanni F.
Beard I.W.: The mechanism of egg - white inhibition of hämagglutination by Swine-Influenza-Virus
Proc. Soc. Eseptl. Biol. and Med. 313 (1948)
- 23 Minard E.L.
Jungherr E.: Neutralization - Tests with Avian-Pneumoencephalitis-Virus
Am. J. Vet. Res. 5, 154 (1944)
- 24 Mc Clurcin A.
Sinha S.K.
Hanson R.P.: Rapid diagnosis of Newcastle-Disease using lung extract
Am. J. Vet. Res. 15, 314 (1954)
- 25 Rolle M.
Mayr A.: Lehrbuch für Mikrobiologie und Allgemeine Seuchenlehre
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart S. 545 (1966)
- 26 Rossi V.
Gallardo E.
Berkoff G.: Determinacion de Anticuerpos para la Enfermedad de Newcastle en Vitelo y Suero de Aves Vacunadas no Vacunadas y Convalecientes
Zooiatria - Vol. VII 1-4 (1966)
- 27 Schmittle S.C.: A comparison of Newcastle-Disease antibody titers in blood and egg yolk as measured by the hemagglutination-inhibition test
Am. J. Vet. Res. 11, 226 (1950)
- 28 Schmittle S.C.
Millen T.W.: Detection of hemagglutination-inhibition antibodies in unincubated eggs
Cornell Vet. 38, 306 (1948)
- 29 Siegmann O.: Impfprophylaxe: Kontrolle der Vakzinationsergebnisse in der Massengeflügelhaltung
Der prakt. Tierarzt 13, 616 (1971)
- 30 Siegmann O.
Kaleta K.
Lüders H.
Janssen W.: Repräsentative Aussagen über den NDV-Antikörperstatus einer Herde durch Stichprobenuntersuchung
Vortrag u. Tagung d. Vet. Med. Gesellschaft e.V. April 1972
- 31 Welch E.L.: Statistische Auswertungsmethoden S. 309 - 311.
Sachs L. (1968) Springer Verlag Berlin
- 32 Wills F.K.
Luginbuhl R.E.: The use of egg yolk for passive immunization of chickens against Newcastle Disease
Avian Diseases 7, 5 (1963)

Herrn Prof. Dr. P. Dorn danke ich herzlichst
für die Überlassung des Themas, für das Inter-
esse, das er meiner Arbeit entgegengebracht
und für Rat und Förderung, die er mir gewährte,

Mein Dank gilt auch Frau Dr. E. Wessling für
Unterstützung und Rat.

Lebenslauf

Am 29.11.1944 wurde ich, Hans-Rainer Seidl als einziges Kind des Kaufmann Alois Seidl und dessen Ehefrau Helene, geb. Kerbl, in Dorfen Kreis Erding geboren.

Ab September 1950 besuchte ich die Volksschule in Pfarrkirchen. Im Herbst 1955 trat ich in das humanistische Gymnasium in Pfarrkirchen ein, wo ich 1966 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1966/67 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München. Im Sommersemester 1967 legte ich die naturwissenschaftliche, im Sommersemester 1968 die medizinische Vorprüfung ab. Mit dem Staatsexamen im Sommer 1971 schloß ich mein Studium ab.

Vom Herbst 1971 bis zum Sommer 1972 arbeitete ich an meiner Dissertation. Anschließend war ich als Assistent bei einem praktischen Tierarzt bis zum 31. Juli 1974 angestellt. Seit 1. September 1974 nehme ich am Vorbereitungskurs für den bayerischen Staatsdienst teil.

